



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID -TLEMCE-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie

Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au
Biomédical et à l'Environnement « LAMAABE »

MÉMOIRE DE MASTER

Présenté par :

Mlle ADDOU Charifa

En vue de l'obtention du diplôme de Master en sciences
biologiques

Option : Microbiologie Fondamentale

Thème

***Effet antibiofilm de l'huile essentielle du thym sur quelques
souches bactériennes***

Soutenu le **15/06/2026** devant le jury composé de :

Président	SALAH Zahra	MCB	Univ. de Tlemcen
Encadrant	MEZIANI Zahira	MCB	Univ. de Tlemcen
Examineur	NAS Fatima	MCB	Univ. de Tlemcen

Année Universitaire : 2025-2026

Remerciements

Avant d'entamer le contenu de mon projet de fin d'étude, je dois remercier, Dieu le tout puissant de me donner la santé, la volonté, la patience et la persévérance pour initier et terminer ce travail. A ce titre, je souhaite remercier toutes les personnes qui ont, d'une manière ou d'une autre, participé à cette expérience.

Je commence à remercier profondément mon encadrant pédagogique **Mme MEZIANI Zahira** de m'avoir donné le privilège d'encadrer mon travail, pour son soutien permanent inaltérable, sa disponibilité et surtout ses conseils. C'est un vrai exemple de générosité, modestie et gentillesse.

Mon remerciement s'adresse également à tous les membres de jury **Mme SALAH Zahra** et **Mme NAS Fatima** pour l'honneur d'accepter d'assister à ma soutenance, de lire ce manuscrit, d'évaluer ce modeste travail et pour leurs remarques constructives qui ont contribué à son perfectionnement.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements au **Professeur Bendahou Mourad** pour son aide précieuse lors de l'extraction de l'huile essentielle du thym, ainsi que pour ses conseils.

Je tiens à remercier notamment tout le personnel du laboratoire du LAMAABE de l'université **Abou bekr-Belkaid** pour avoir mis à notre disposition les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail.

J'exprime mes vifs remerciements à tous mes enseignants de la faculté des Sciences Biologiques pour la qualité d'étude.

Enfin, je maintiens à manifester toute ma gratitude à tous ceux qui m'ont soutenu et aidé de près ou de loin pour réaliser ce travail.

Merci à tous.

Dédicace

Du fond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers

À ma très chère mère,

À mon très cher père,

Vous qui avez toujours cru en moi, dont l'amour, le soutien, les encouragements et les sacrifices ont illuminé chacune de mes journées. Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai jamais vous remercier comme il se doit.

À ma très chère sœur,

Merci d'être toujours à mes côtés, d'être mon amie, ma confidente et une source constante de soutien et de réconfort.

À mes chers frères,

Je remercie chaleureusement pour leur soutien, leurs encouragements et leur présence tout au long de la réalisation de ce travail.

À mes chères amies,

Merci pour votre soutien, vos encouragements, les moments de partage et votre présence tout au long de ce parcours.

Et enfin, à moi-même,

Pour ma patience, ma persévérance et tous les efforts fournis afin d'arriver au terme de ce travail malgré les difficultés rencontrées

Que ce travail soit le témoignage de ma reconnaissance et de ma profonde gratitude envers toutes les personnes qui m'ont soutenue de près ou de loin. Merci du fond du cœur.

Table des matières

Introduction	3
Partie bibliographique.....	2
Chapitre 1 : Thym.....	2
1. Généralité	2
2. Systématique	3
3. Description botanique	3
4. Répartition géographique	4
5. Composition chimique	5
6. Usage du thym	6
6.1. Usage traditionnel	6
6.2. Usage cosmétique	6
6.3. Usage thérapeutique	6
Chapitre 2 : Biofilm.....	8
1. Historique	8
2. La définition	8
3. Composition	9
4. Processus de Formation	10
4.1. Adhésion réversible	10
4.2. Adhésion irréversible	10
4.3. Formation de microcolonies	10
4.4. Maturation	11
4.5. Dispersion	11
5. Lutte contre les biofilms	12
5.1. Méthodes chimiques	12
5.2. Méthodes physiques	12
5.3. Méthodes biologiques	12
5.4. Inhibition de Quorum Sensing (QS)	12
5.5. Utilisation des plantes	13

Matériel et Méthodes	14
1. Matériel	15
1.1. Matériel biologique	15
1.2. Matériel végétal	15
2. Méthodes	16
2.1. Extraction de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> par hydrodistillation	16
2.2. Détermination du rendement en huile essentielle du thym	17
2.3. Repiquage des souches bactériennes	17
2.4. Conservation des souches bactériennes	17
2.5. Détection de l'effet d'antibiofilm de l'huile essentielle du thym sur quelques souches bactériennes	18
2.5.1. Étude de la formation de biofilm des souches bactériennes	18
2.5.2. Étude de l'effet antibiofilm de l'huile essentielle (HE)	20
2.5.2.1. Préparation de la solution mère de l'HE	20
2.5.2.2. Effet antibiofilm de l'HE	20
Résultats et discussion	22
1. Repiquage des souches bactériennes	23
2. Résultats de la Formation de Biofilm	23
3. Résultats de l'effet antibiofilm de l'HE du thym sur les souches bactériennes	25
Conclusion et perspectives	28
Annexes	30
Références bibliographiques	33

ملخص

تقيم هذه الدراسة التأثير المضاد للأغشية الحيوية لزيت الزعتر العطري (*Thymus vulgaris*) على عدة أنواع من البكتيريا المكونة للأغشية الحيوية. وقد سُخدمت طريقة الألواح الدقيقة لقياس قدرة البكتيريا على تكوين غشاء حيوي قبل وبعد المعالجة بتركيز من الزيت العطري. تُظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن زيت الزعتر يتمتع بنشاط مضاد للأغشية الحيوية ملحوظ ضد العديد من السلالات المسببة للأمراض، ولا سيما المكورات العنقودية الذهبية، والإشريكية القولونية، والزائفة الزنجارية، والكلبسيلا الرئوية. مع انخفاض كبير في الكثافة البصرية بعد المعالجة. تسلط هذه النتائج الضوء على إمكانات زيت الزعتر العطري كعامل طبيعي مضاد للبيوفيلم، مما يفتح آفاقاً مثيرة للاهتمام لتطوير استراتيجيات جديدة لمكافحة العدوى البكتيرية المرتبطة بالغشاء الحيوي.

الكلمات المفتاحية: زيت الزعتر العطري، الأغشية الحيوية، مضاد الأغشية الحيوية، بكتيريا، الصفيحة الدقيقة
Thymus vulgaris.

Abstract

This study evaluates the antibiofilm effect of thyme essential oil « *Thymus vulgaris* » on several biofilm-forming bacteria. The microplate assay was used to measure the bacteria's ability to form a biofilm before and after treatment of the essential oil. The results show that thyme oil exhibits significant antibiofilm activity against several pathogenic strains, including *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Klebsiella pneumoniae*, with a significant reduction in optical density following treatment. These results highlight the potential of thyme essential oil as a natural antibiofilm agent, thus opening up interesting prospects for the development of new strategies to combat bacterial infections associated with biofilms.

Keywords: Thyme essential oil, *Thymus vulgaris*, biofilm, antibiofilm, bacteria, microplate.

Résumé

Cette étude évalue l'effet antibiofilm de l'huile essentielle du thym « *Thymus vulgaris* » sur plusieurs bactéries formatrices de biofilm. La méthode de microplaque a été utilisée afin de mesurer la capacité des bactéries à produire un biofilm avant et après traitement par l'huile essentielle du thym. Les résultats obtenus montrent que l'huile du thym possède une activité antibiofilm significative contre plusieurs souches bactériennes, notamment *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*, avec une réduction importante de la densité optique après traitement. Ces résultats mettent en évidence le potentiel de l'huile essentielle du thym comme agent naturel antibiofilm, ouvrant ainsi des perspectives intéressantes pour le développement de nouvelles stratégies de lutte contre les infections bactériennes associées aux biofilms.

Mots-clés : Huile essentielle du thym, *Thymus vulgaris*, biofilm, antibiofilm, bactéries, microplaque.

Liste des abréviations

- **ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- **ADNe** : Acide Désoxyribonucléique extracellulaire
- **AFNOR** : Association Française de Normalisation
- **BN** : Bouillon Nutritif
- **DO** : Densité Optique
- **ELISA** : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
- **EPS** : Substances Polymériques Extracellulaires (Extracellular Polymeric Substances)
- **GN** : Gélose Nutritive
- **HE** : Huile Essentielle
- **LPS** : Lipopolysaccharides
- **Na ClO** : Hypochlorite de sodium
- **μL** : Microlitre
- **QS** : Quorum Sensing
- **Rdt** : Rendement
- **TCP** : Plaque de culture de tissus (Tissue Culture Plate).
- **UFC** : Unité Formant Colonie

Liste des figures

Figure 1 : Aspect morphologique de <i>Thymus vulgaris</i>	4
Figure 2 : Distribution géographique du thym dans le monde	4
Figure 3 : Le cycle de développement d'un biofilm.	11
Figure 4 : La partie aérienne sèche de <i>Thymus vulgaris</i>	16
Figure 5 : Montage de l'appareil d'hydrodistillation lors de l'extraction de l'HE	17
Figure 6 : Précultures des souches bactériennes.	18
Figure 7 : Formation de biofilm sur microplaque de titration (TCP).	19
Figure 8 : Préparation de la solution mère de l'HE	20
Figure 9 : Microplaque contenant la suspension bactérienne et l'HE.	21
Figure 10 : Résultats de la formation de biofilm par la technique TCP.	25
Figure 11 : Formation de biofilm avant et après le traitement.	27

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification botanique de <i>Thymus vulgaris</i>	3
Tableau 2 : Origine des souches bactériennes utilisées	15
Tableau 3 : Classification de l'adhérence bactérienne par technique TCP	20
Tableau 4 : Résultats de l'évaluation de la formation de biofilm.	23
Tableau 5 : Résultats de l'effet antibiofilm de l'HE du thym à 10% sur les souches bactériennes.	25

Introduction

Introduction

Le traitement des infections bactériennes s'accompagne d'une augmentation alarmante de la résistance aux antibiotiques traditionnels, au point que l'Organisation Mondiale de la Santé considère aujourd'hui ce phénomène comme une menace majeure pour la santé publique. Face à des traitements classiques qui s'essoufflent et échouent de plus en plus souvent (**Boucher *et al.*, 2009**).

La recherche scientifique doit trouver une nouvelle stratégie ; plutôt que de chercher à tout prix à tuer les bactéries avec des agents bactéricides, ce qui crée une forte pression de sélection et favorise inévitablement l'apparition de nouvelles résistances ; une attention croissante est désormais accordée aux stratégies dites "anti-virulence" (**Rasko et Sperandio, 2010**). L'objectif n'est plus d'éliminer la bactérie, mais simplement de la désarmer en bloquant ses moyens d'attaque sans pour autant perturber sa survie immédiate.

C'est dans cette vision moderne que les produits naturels, et particulièrement les huiles essentielles révèlent tout leur intérêt. Parmi elles, l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* se distingue nettement. Le pouvoir antimicrobien à éliminer les microbes sont déjà bien connues, c'est son action à des concentrations très faibles, agit comme un bouclier anti-virulence (**Ahmad *et al.*, 2015**). Elle perturbe les signaux de communication des bactéries et bloque l'expression des gènes qui leur permettent d'agresser l'organisme.

L'un des facteurs de virulence les plus redoutables chez les bactéries est leur capacité à s'organiser sous forme de biofilms (**Costerton *et al.*, 1999**). Un biofilm est une sorte de communauté de bactéries qui s'agglutinent entre elles et s'enveloppent dans une bulle de protection gluante (**Flemming et Wingender, 2010**). Ce mode de vie communautaire agit comme un protecteur hautement efficace, les bactéries au sein du biofilm deviennent jusqu'à 1000 fois plus tolérantes aux antibiotiques et échappent activement aux défenses immunitaires de l'hôte (**Mah et O'Toole, 2001**).

Face à cette problématique, l'objectif général de cette étude vise à extraire l'huile essentielle du Thym d'une part et évaluer son effet antibiofilm à une faible concentration sur différentes souches bactériennes d'autre part.

1. Généralité

Les plantes médicinales comme le thym sont toutes les plantes qui auraient une activité pharmacologique pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. Cela grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain, elles sont utilisées en pharmacie humaine et vétérinaire, en cosmétologie ainsi que dans la confection de boissons, soit nature, soit en préparation galénique ou encore sous forme de principes actifs comme matière pour l'obtention de médicaments (**Patil et al., 2021**).

Le thym est un mot qui recouvre en réalité une grande diversité de plantes. Quand on parle de thym commun en phytothérapie, on désigne précisément *Thymus vulgaris*. C'est la plus utilisée depuis l'antiquité.

C'est une plante vivante, marque son identité par des caractéristiques morphologiques, à l'origine de la classification botanique et même biochimiques, liées à des voies de biosynthèses inédites, qui représentent l'intérêt de l'usage des plantes médicinales (**Bruneton, 1987 ; Salehi et al., 2019**).

Les égyptiens de l'antiquité, connus pour leurs connaissances médicales avancées, utilisaient le thym dans les processus d'embaumement, probablement en raison de ses propriétés antiseptiques et conservatrices (**Livingston, 2025**).

Les grecs ont donné une prescription plus précise du rôle du thym dans le traitement des troubles respiratoires. Ils reconnaissaient ses propriétés antiseptiques et l'utilisaient dans les bains et les encens. **Hippocrate**, le père de la médecine mentionnait le thym pour soigner les affections respiratoires.

Les romains, toujours pragmatiques, adoptèrent et développèrent les connaissances médicales grecques. Ils utilisaient largement le thym, non seulement à des fins médicales, mais aussi pour aromatiser les plats et purifier leurs maisons. Les soldats romains, conscients des propriétés antiseptiques du thym, s'en servaient pour désinfecter les blessures et prévenir les infections (**Patil et al., 2021 ; Livingston, 2025**).

Le nom *Thymus* dérive du mot grec « thymos » veut dire 'parfumer' à cause de l'odeur agréable que la plante dégage naturellement ou lorsqu'on la fait brûler (**Pariente, 2001 ; Tavassoli et al., 2025**). Tandis que d'autres le relient à thymos « courage » ou « force ». À l'origine, le terme « thym » désignait des plantes aromatiques utilisées pour stimuler les

fonctions vitales (Tavassoli *et al.*, 2025).

Le genre appartient à la famille des Lamiacées, anciennement appelée Labiées en raison de la corolle en deux lèvres de ses petites fleurs. C'est l'une des familles les plus larges dans le règne végétal. Elle comprend approximativement 240 genres et 7200 espèces (Karpiński, 2020 ; Islam *et al.*, 2022). Elle est une des principales familles productrices d'huiles essentielles et ce sont des plantes qui sont énormément utilisées et connues en tant que herbes aromatiques (Galovičová *et al.*, 2021 ; Nieto *et al.*, 2021).

Les *Thymus* sont caractérisés morphologiquement par leurs formes de vie, ce sont des plantes très résistantes, ce qui leur permet de vivre sous des conditions climatiques extrêmes (Mahdavi *et al.*, 2020).

2. Systématique

Ce classement se fonde sur la classification botanique ancienne (Goetz et Ghedira, 2012) (Tableau 1).

Tableau 1 : Classification botanique de *Thymus vulgaris* (Goetz et Ghedira, 2012).

Règne	<i>Plantae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris</i>

3. Description botanique

Le thym est une plante basse sous-ligneuse, peut atteindre 40 cm de hauteur, caractérisée par des feuilles vert foncé, persistantes, petite taille de 4–10 mm de long, et de forme elliptique à oblongue et à tige courte. Ces feuilles sont recouvertes de poils glandulaire appelés trichomes; beaucoup sont le point de départ de ramuscles très courts, ces derniers contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de monoterpènes. Elles sont subsessiles et de couleur vert grisâtre ; beaucoup sont le point de départ de ramuscles très courts, formant des faisceaux de petites feuilles issues de celles des tiges ; leur face inférieure est feutrée et ponctuée de poils sécréteurs, alors que leur face supérieure est glabre et marquée par une nervure centrale déprimée ; les marges du limbe sont généralement enroulées sur la face ventrale, ce qui donne à la feuille une forme générale d'aiguille (Patil *et al.*, 2021) (Figure 1).

Les fleurs, regroupées par 2 ou 3 à l'aisselle de feuilles, sont rassemblées en glomérules ovoïdes ; elles sont de petite taille et zygomorphes ; le calice est velu, hérissé de poils durs, en forme de tube ventru à la base et de 3 à 4 mm de long ; il est formé de 5 sépales soudés en 2 lèvres inégales, celle du haut étant tridentée et celle du bas bilobée, ciliée et arquée ; la corolle est de taille variable, bilabée et de couleur mauve (Goetz et Ghedira, 2012 ; Khan *et al.*, 2021).

Les calices et les jeunes tiges sont aussi couverts de ces structures qui libèrent l'essence par simple contact, bien qu'en plus faible densité sur les tiges (Benazzeddine, 2010). Le thym a une durée de vie allant de 4 à 7 ans (Lavergne, 2012).



Figure 1 : Aspect morphologique de *Thymus vulgaris* (Khan *et al.*, 2021).

4. Répartition géographique

Le thym prospère dans des endroits ensoleillés et bien drainés. Originaire de la région méditerranéenne, il est cultivé et naturalisé dans de nombreuses autres régions du monde, notamment en Europe, en Amérique du Nord et en Asie (Livingston, 2025). C'est un genre très répandu dans le nord-ouest africain (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye), il pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et au sud-ouest de la péninsule Arabique, en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte (Morales, 1997) (Figure 2).

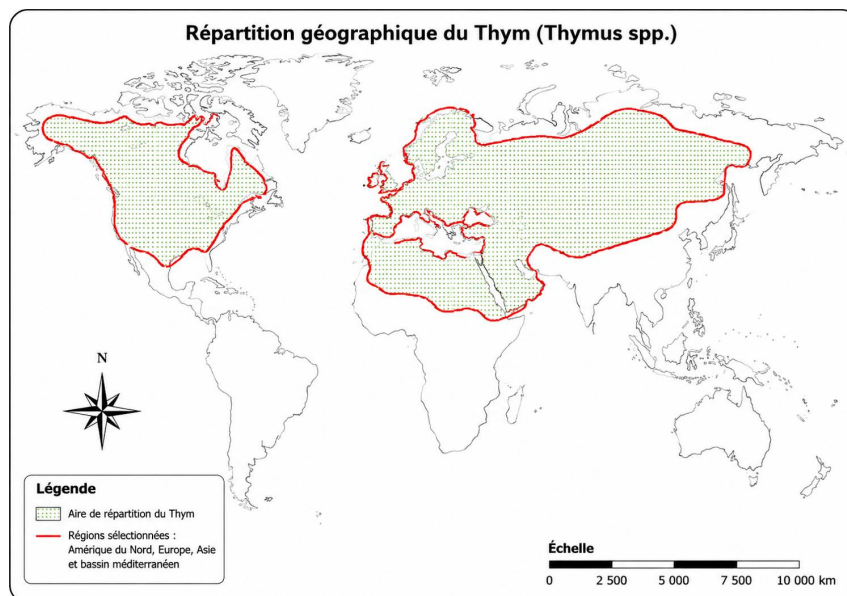


Figure 2 : Distribution géographique du thym dans le monde (Morales, 1997).

L'Algérie est connue par sa richesse en plantes médicinales à cause de sa superficie et sa diversité bioclimatique. Le genre *Thymus* comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides (Hammaz et Nafa, 2017).

5. Composition chimique

Jusqu'à présent, diverses recherches sur la composition chimique de *Thymus* du monde entier et en Algérie ont été menées. La qualité de *Thymus* est généralement déterminée par leur teneur en huiles essentielles. Cependant, ils contiennent également de :

- **Flavonoïdes** : *Thymus vulgaris* contient plusieurs flavonoïdes tels que l'apigénine, la lutéoline, la cirsimarine et la genkwanine ; certains composés restent encore peu étudiés (Abdelli *et al.*, 2017 ; Al-Asmari *et al.*, 2017 ; Patil *et al.*, 2021).
- **Composés phénoliques** : Les principaux composés phénoliques identifiés comprennent le crésol, le thiophénol, l'acide quinique, le loliolide, le phénol, ainsi que les acides rosmarinique, caféique et *p*-coumarique (Reddy *et al.*, 2014 ; Escobar *et al.*, 2020).
- **Terpénoïdes** : L'huile essentielle est riche en thymol, carvacrol, linalol et γ -terpinène. Six chémotypes ont été décrits, mais seul le chémotype à thymol satisfait aux normes de la Pharmacopée Européenne (Dauqan et Abdullah,

2017 ; Patil *et al.*, 2021).

- **Autres composés** : D'autres constituants ont également été signalés, notamment les stéroïdes, tanins, alcaloïdes, saponines, polysaccharides, protéines et vitamines ; plusieurs nécessitent encore des études approfondies (Asha et Mathew, 2017 ; Banerjee *et al.*, 2019).

6. Usage du thym

Grâce à tous ces composants chimiques, le thym a autant de vertus thérapeutiques et pharmacologiques.

6.1. Usage traditionnel

Le thym est très souvent utilisé comme épice aromate en cuisine, qu' il soit frais ou sèc (Kuete, 2017).

Les usages traditionnels des espèces incluent des applications externes et internes, ce qui témoigne de leur rôle polyvalent dans la médecine populaire. Bardeau considérait le thym comme indispensable au maintien de la santé, décrivant ses propriétés revigorantes et stimulantes lorsqu'il est consommé sous forme de tisane (Bardeau, 1973). Des études ethnopharmacologiques décrivent des applications topiques d'huiles essentielles à base de thym pour le traitement des plaies, des ulcères, des infections cutanées, des abcès et de diverses formes de dermatite. Son utilisation en massage pour soulager les douleurs rhumatismales, la sciatique, l'arthrite et les névralgies a également été rapportée.

De plus, les bains au thym sont considérés comme à la fois stimulants et relaxants, et sont parfois recommandés dans le cadre de cures d'amaigrissement (Patil *et al.*, 2021 ; Aneva *et al.*, 2026), les utilisations internes des espèces occupent une place particulièrement pour traiter la bronchite, la toux, l'asthme, la sinusite, la tuberculose et même considéré comme un tonique général, car il soulagerait l'insomnie, la tension nerveuse, l'anxiété et la fatigue (Silva *et al.*, 2021 ; Aneva *et al.*, 2026).

6.2. Usage cosmétique

Plusieurs études ont évalué l'efficacité des composants bioactifs du thym dans le domaine cosmétique, son huile essentielle est riche en thymol qui est utilisée pour la confection de savons, de produits de beauté, des parfums, des détergents, d'articles de toilette, produits d'hygiène et bien d'autres produits. Par ailleurs, il a été démontré qu'il est un bon remède contre la chute de cheveux (Silva *et al.*, 2021 ; Abelan *et al.*, 2022).

6.3. Usage thérapeutique

La phytothérapie est basée sur l'utilisation des produits végétaux pour le traitement des maladies humaines. Le thym est une plante qui a une longue tradition. Il est utilisé principalement dans le domaine médical pour ses propriétés antiseptique, anti-inflammatoire, antispasmodique et antitussif (**Labiad *et al.*, 2017 ; Galovičová *et al.*, 2021 ; Vassiliou *et al.*, 2023**). Des études récentes ont montré aussi que les espèces de *Thymus* ont de forts pouvoirs antifongiques, antiviraux, antimicrobiennes, antiparasitaires, antioxydant et antibiofilm (**Ghelichnia, 2016 ; Kowalczyk *et al.*, 2020 ; Vassiliou *et al.*, 2023**). Par ailleurs, les extraits du thym ont montré une large activité antibactérienne en inhibant la croissance des bactéries à Gram positif et à Gram négatif (**Galovičová *et al.*, 2021 ; Patil *et al.*, 2021**)

1. Historique

En 1684, **Anton van Leeuwenhoek** commença ses observations au microscope, qu'il venait de construire (**Donlan, 2002 ; Sharma et al., 2023**). En étudiant les bactéries présentes dans la plaque dentaire de sa propre bouche, il découvrit une multitude de minuscules organismes vivants qu'il nomma « animalcules ». Il put réaliser des dessins détaillés des amas bactériens observés, offrant ainsi la première représentation visuelle d'un biofilm buccal.

En 1865, **Louis Pasteur** étudia le vin et découvrit de nombreux amas bactériens responsables de son altération (**Bjarnsholt et al., 2013**). Ses recherches démontrèrent que ces structures microbiennes subissent des processus biologiques organisés et contribuèrent à la mise au point de la pasteurisation.

Les études d'**Arthur Henrici** sur la composition des bactéries d'eau douce en 1933 ont révélé que la plupart des bactéries naturellement présentes dans l'environnement ne sont ni planctoniques ni flottantes, mais adhèrent plutôt à des surfaces immergées, où elles peuvent se multiplier rapidement ; ses résultats ont permis une meilleure compréhension de la formation des biofilms et des systèmes écologiques associés à l'établissement des biofilms (**Henrici, 1933**).

En 1943, **Claude Zobell** a formellement décrit comment les bactéries marines s'associent aux surfaces et montré que la colonisation se fait en deux étapes : une fixation initiale, potentiellement réversible, suivie en général par une adhésion permanente à la surface du substrat (**Zobell, 1943 ; Sharma et al., 2023**).

Dans les années 1970-1980, **William Costerton**, considéré comme le père de la science moderne, a été le pionnier de la théorie du biofilm. Il a joué un rôle déterminant dans la découverte que les biofilms sont entourés d'une couche protectrice appelée glycocalyx et a établi un lien important entre la présence de biofilms et les infections résistantes chez les patients atteints de mucoviscidose ; ses travaux ont véritablement révolutionné le domaine de la microbiologie médicale (**Coenye et al., 2020 ; Sharma et al., 2023**).

2. La définition

Un biofilm correspond à une organisation tridimensionnelle, hétérogène et structurée de micro-organismes, tels que bactéries, champignons ou algues, qui se développent en agrégats plutôt que sous forme libre. (**Sharma et al., 2023 ; Farah et al., 2025**). Entre ces structures se trouvent des canaux d'eau qui agissent comme un système circulatoire primitif

pour apporter l'oxygène et les nutriments aux bactéries situées en profondeur et évacuer les déchets (**Sharma *et al.*, 2023**). Ces communautés peuvent être composées d'une seule espèce ou regrouper de plusieurs espèces différentes en interaction.

Contrairement aux bactéries dites planctoniques qui évoluent isolément, les cellules formant un biofilm sont généralement attachées à une surface, qu'elle soit vivante, par exemple un tissu humain, ou inerte, comme une sonde médicale, bien qu'elles puissent également s'organiser en agrégats flottants (**Sharma *et al.*, 2023 ; Sahoo et Meshram, 2024 ; Farah *et al.*, 2025**).

3. Composition

Le biofilm ne se limite pas exclusivement aux micro-organismes. En effet, la biomasse microbienne ne correspond qu'à environ 10 % du volume total (**Sharma *et al.*, 2023 ; Li *et al.*, 2024**). L'eau, qui représente près de 90 % du biofilm, joue un rôle essentiel dans le transport des nutriments.

La caractéristique principale du biofilm réside dans sa matrice extracellulaire, un gel protecteur synthétisé par les micro-organismes eux-mêmes (**Sharma *et al.*, 2023 ; Sahoo et Meshram, 2024**). Cette matrice représente la majeure partie du biofilm, souvent entre 85 % et 90 % de la biomasse totale. La matrice extracellulaire (EPS) constitue une substance adhésive servant à structurer et à stabiliser l'ensemble. C'est la "colle" ou le "ciment" qui maintient tous ensemble (**Sahoo et Meshram, 2024 ; Farah *et al.*, 2025**).

➤ la Matrice Extracellulaire

La matrice des substances polymères extracellulaires constitue un élément central pour la pérennité du biofilm. Cette matrice comprend plusieurs composants distincts :

Les polysaccharides, qui correspondent à des sucres complexes, jouent un rôle fondamental en formant la charpente de la structure et en assurant l'adhésion à la surface support (**Li *et al.*, 2024**).

Les protéines et les enzymes contribuent à la stabilisation mécanique de la matrice tout en participant à la dégradation des nutriments, ce qui favorise la subsistance bactérienne (**Flemming *et al.*, 2025**).

L'ADN extracellulaire (ADNe) intervient en tant qu'agent stabilisateur de la structure et facilite la transmission des signaux de communication entre les cellules (**Saharan *et al.*, 2024**).

Enfin, **les lipides** prennent part à la cohésion globale de cette matrice, renforçant l'intégralité de l'ensemble (**Sahoo et Meshram, 2024**).

4. Processus de Formation

Le développement d'un biofilm correspond à un cycle de vie strictement régulé (**Figure 3**).

4.1. Adhésion réversible

Au stade initial, l'adhésion des bactéries à une surface est réversible ; ces microorganismes en suspension sont maintenus par des forces physiques faibles, ce qui leur permet de se détacher aisément (**Muhammed et al., 2020**).

Les cellules s'attachent à la surface et commencent la division cellulaire, formant des micro-colonies produisant autour d'elles une matrice polymérique à base de polysaccharides. La surface bactérienne et le support interagissent fortement par des liaisons hydrophobes telles que les forces de Van der Waals, les interactions stériques et électrostatiques. Cette forte interaction permet aux bactéries de s'ancrer irréversiblement (**Galié et al., 2018 ; Karygianni et al., 2020 ; Chatterjee et al., 2023**).

4.2. Adhésion irréversible

L'adhésion devient irréversible lorsque les bactéries synthétisent une matrice extracellulaire qui agit comme une colle, renforçant leur fixation à la surface grâce à des structures telles que les flagelles ou les pili (**Sahoo et Meshram, 2024**).

La fixation sur une surface solide devient irréversible par la libération d'exopolysaccharides par les bactéries, générant de fortes interactions à travers des liaisons covalentes entre les bactéries et la surface, mais surtout grâce à des structures d'adhésion qui varient selon les espèces bactériennes (**Flemming et al., 2016 ; Karygianni et al., 2020**).

4.3. Formation de microcolonies

Les bactéries prolifèrent et s'organisent en microcolonies dispersées (**Farah et al., 2025**).

Les colonies qui se forment commencent à produire de la matrice extracellulaire. À la suite d'une fixation irréversible, la colonie bactérienne se propage soit par mitose, soit en fusionnant la mitose avec l'intégration d'autres cellules microbiennes (**Mack et al., 1999 ; Aumeran et al., 2020**).

4.4. Maturation

Le biofilm augmente en épaisseur et développe une architecture tridimensionnelle complexe, caractérisée notamment par la formation de canaux aqueux (Sharma *et al.*, 2023).

Au cours de cette étape, les cellules microbiennes s'agrègent pour créer un biofilm. Dans ce but, elles émettent des signaux d'auto-indication qui conduisent à l'expression d'un gène spécifique au biofilm, facilitant la communication entre les cellules. Cette interaction bactérienne se réalise grâce à un outil de détection nommé « Quorum Sensing ». Ce système est fondé sur la production des molécules diffusibles par les bactéries. À ce moment, le micro-organisme produit l'EPS, cette étape est marquée par une croissance de la dimension du biofilm (Thierry, 2008 ; Rutherford et Bassler, 2012).

4.5. Dispersion

La dispersion survient lorsque des fragments du biofilm ou des bactéries isolées se détachent, ce qui leur permet de coloniser de nouvelles surfaces et d'étendre ainsi la propagation de l'infection (Muhammed *et al.*, 2020).

La dispersion ou le décollement représente la phase finale du cycle de vie d'un biofilm, pouvant être active ou passive (Kaplan, 2010). On l'appelle phase planctonique, car des cellules différenciées quittent le biofilm et regagnent un état libre, perdant ainsi leur phénotype de biofilm, mais sont capables de coloniser d'autres surfaces (Donlan, 2002 ; Mcdougald *et al.*, 2012 ; Rumbaugh et Sauer, 2020 ; Caro-Astorga *et al.*, 2021 ; Ding *et al.*, 2025).

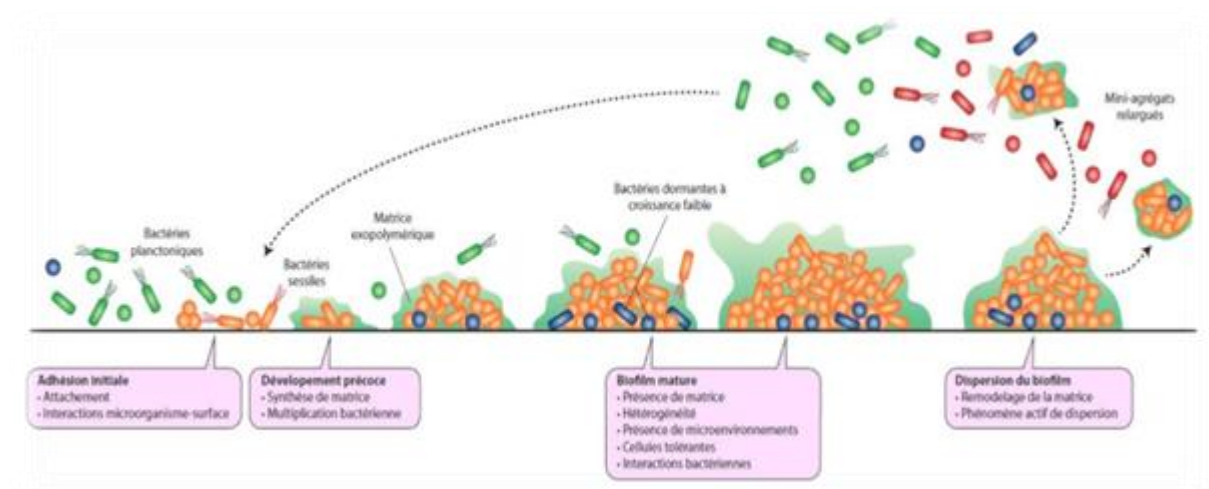


Figure 3 : Le cycle de développement d'un biofilm (Aumeran *et al.*, 2020).

5. Lutte contre les biofilms

De nombreuses approches peuvent être utilisées pour empêcher la formation de biofilms :

5.1. Méthodes chimiques

Les traitements chimiques sont largement utilisés pour la désinfection des surfaces afin de prévenir et contrôler les biofilms (**Gomes *et al.*, 2024**).

La désinfection est une technique qui favorise l'élimination des germes nuisibles d'une surface. Pour une efficacité optimale, le nettoyage approprié doit précéder la désinfection (**Fong et Barn, 2012 ; Maillard et Centeleghe, 2023**). On a constaté l'efficacité de divers composés contre les biofilms, à l'instar de l'hypochlorite de sodium (Na ClO) (**Das et Lalitha, 2022**). Cependant, les désinfectants à base de chlore sont les plus couramment employés dans le secteur alimentaire (**Galié *et al.*, 2018 ; Yang *et al.*, 2016**), du fait de leur facilité de préparation et d'application ainsi que de leur coût généralement avantageux (**Schmidt, 2021**).

5.2. Méthodes physiques

Des méthodes physiques en tant qu'alternatives aux désinfectants chimiques sont utilisées, par exemple : l'emploi de la lumière et de l'ozone pour la pasteurisation (**Liu *et al.*, 2022**). L'emploi de la bioélectricité pour améliorer l'infiltration des substances actives dans le biofilm (**Ciarolla *et al.*, 2023**).

5.3. Méthodes biologiques

- **Bactériophages** : Sont des virus capables d'infecter les bactéries et d'influer sur la création de biofilm via leurs enzymes susceptibles de démanteler le composant EPS, après quoi les bactéries exposées à la surface deviennent infectées par ces phages (**Latka *et al.*, 2017 ; Topka-Bielecka *et al.*, 2021 ; Guo *et al.*, 2023. Meneses *et al.*, 2023**)
- **Bactériocines** : Sont des peptides antimicrobiens de synthèse ribosomal produits par les bactéries. La nisine est jusqu'à maintenant la seule bactériocine approuvée par l'agence fédérale américaine des produits alimentaires et médicamenteux. Cette bactériocine aide à augmenter la durée de conservation, à prévenir la détérioration des produits et à minimiser le recours aux traitements thermiques (**Cleveland *et al.*, 2001 ; Yu *et al.*, 2023 ; Wu *et al.*, 2023**).

5.4. Inhibition de Quorum Sensing (QS)

Les inhibiteurs du QS fonctionnent principalement en désactivant le système médiateur QS qui à son tour bloque la communication intercellulaire par dégradation

enzymatique du QS, inhibition des signaux de biosynthèse du QS et régulation post-traductionnelle des QS, cette approche axée sur le QS et la formation de biofilm génère moins de sélection exercée et par conséquent, n'engendre pas de résistance au composé inhibiteur (Paluch *et al.*, 2020 ; Wang *et al.*, 2022 ; Eltaher *et al.*, 2026).

5.5. Utilisation des plantes

Les plantes produisent plusieurs métabolites secondaires pour leur protection contre les agents pathogènes telle que les bactéries, ces métabolites sont une bonne source pour lutter contre la formation de biofilm. Les plantes aromatiques sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour inhiber l'adhésion des cellules sur l'acier inoxydable comme l'origan, thymol, carvacrol et le cumin, ces plantes ayant un effet efficace contre le biofilm comme le biofilm formé par : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* , *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ... (Guzzo *et al.*, 2020 ; Walczak *et al.*, 2021 ; Farhadi *et al.*, 2024).

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Cette recherche a été réalisée au sein du Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agro-alimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) de l'Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen. Notre travail porte sur l'étude de l'effet antibiofilm de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur différentes souches bactériennes, dans ce contexte, notre objectif principal vise à :

- Extraire l'huile essentielle du thym.
- Évaluer la capacité des souches de référence à former le biofilm.
- Étudier l'effet antibiofilm de cette huile sur des souches bactériennes de référence et une seule qui est sauvage.

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

➤ Les bactéries

Les souches utilisées dans ce travail sont quatre (4), préalablement identifiées et conservées au niveau du LAMAABE (**Tableau 2**).

Tableau 2 : Origine des souches bactériennes utilisées

Souche	Origine	Type
<i>Enterococcus faecalis</i>	LAMAABE	Souche sauvage
<i>Escherichia coli</i>	LAMAABE	Souche de référence
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	LAMAABE	Souche de référence
<i>Staphylococcus aureus</i>	LAMAABE	Souche de référence

1.2. Matériel végétal

Le thym est l'espèce végétale qui a fait l'objet de cette étude, originaire de la région de Maghnia (Algérie). Cette dernière était identifiée sur la base de ses caractéristiques morphologiques par l'utilisation d'une application d'identification végétale « PlantSnap : Plant identifier ».

La partie aérienne est dépoussiérée et séchée à l'ombre sur du papier propre à l'air libre, non exposée à l'humidité, sans recourir à un traitement thermique pour réduire la perte de composants actifs. Ensuite stockés dans des sacs en papier propres jusqu'à leur utilisation (**Figure 4**).



Figure 4 : La partie aérienne sèche de *Thymus vulgaris*.

2. Méthodes

2.1. Extraction de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* par hydrodistillation

L'extraction de l'huiles essentielle a été effectuée au sein du laboratoire de biochimie de l'Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen.

L'extraction était réalisée par hydrodistillation classique des parties aériennes séchées du thym dans un appareil de type clewenger pendant 3 heures (**Figure 5**). Le protocole d'extraction a été réalisée comme suit :

- 250 g de la partie aérienne sèche de *Thymus vulgaris* était directement placés dans un ballon en verre rempli de 1L d'eau.
- Le mélange a été porté à ébullition à l'aide d'un chauffe-ballon pendant 3 à 4 heures.
- Pendant la distillation, les composés volatils des feuilles étaient entraînés par la vapeur d'eau.
- La vapeur d'eau chargée en huile essentielle a été collectée dans un réfrigérant où elle s'est condensée.
- L'huile essentielle insoluble dans l'eau a été séparée de l'eau distillée.
- L'huile essentielle était stockée dans un tube en verre à hémolyse stérile et fermé à une température de 4 ± 1 °C, à l'abri de la lumière.



Figure 5 : Montage de l'appareil d'hydrodistillation lors de l'extraction de l'HE

2.2. Détermination du rendement en huile essentielle du thym

Selon les normes de l'AFNOR, Le rendement en huile essentielle (0.88 %) se définit comme le quotient entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du thym sec traité. Cette mesure est calculée selon la formule suivante :

$\text{Rdt \%} = \text{M/M0} \times 100$
--

Sachent que :

Rdt % : Rendement en huile essentielle exprimé en %.

M : Masse de l'huile essentielle récupérée en gramme (g).

M₀ : Masse de matière végétale à traiter en gramme (g).

2.3. Repiquage des souches bactériennes

Afin d'obtenir des cultures jeunes des souches bactériennes, les souches ont été repiquées à partir du milieu d'origine sur gélose nutritive (GN), pour les quatre 4 souches : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. Cette étape est cruciale pour isoler et obtenir des colonies pures et jeunes.

2.4. Conservation des souches bactériennes

La conservation des souches pures à long terme permet de maintenir les souches pour

Matériel et méthodes

une période allant de quelques mois à plusieurs années. Dans cette technique, on utilise des tubes à Eppendorf et on y ajoute des additifs cryoprotecteurs tels que le glycérol (un protecteur contre la formation de cristaux de glace nuisibles pour les bactéries). D'où, 1.5ml de la culture bactérienne est mélangé à 1.5ml de glycérol. La conservation se fait à une température à -20°C .

2.5. Détection de l'effet d'antibiofilm de l'huile essentielle du thym sur quelques souches bactériennes

Le principe de la détection de l'effet antibiofilm de l'huile essentielle du thym sur des souches bactériennes repose sur l'évaluation de leur capacité à inhiber ou perturber ces souches à former le biofilm.

2.5.1. Étude de la formation de biofilm des souches bactériennes

Pour confirmer la capacité des souches à former le biofilm, une méthode de microtitration en plaque (TCP) a été utilisée. C'est une technique phénotypique quantitative (Christensen et al., 1985).

Les bactéries sont cultivées dans un bouillon nutritif et incubées pendant 24 heures à 37°C (Figure 6).



Figure 6 : Précultures des souches bactériennes.

Après une nuit d'incubation, la densité optique (DO) des précultures était ajustée via un densitomètre entre 0.08 et 0.1 l'équivalent de 10^8 UFC/ml afin d'obtenir un inoculum standardisé.

Les puits de la plaque TCP étaient inoculés avec 150 μL de chaque souche dans 4 lignes et laissaient la première ligne pour le témoin (BN). On recouvre la microplaque, on

Matériel et méthodes

scelle de manière stérile et on les incube pendant 24 heures à 37°C (**Figure 07**).

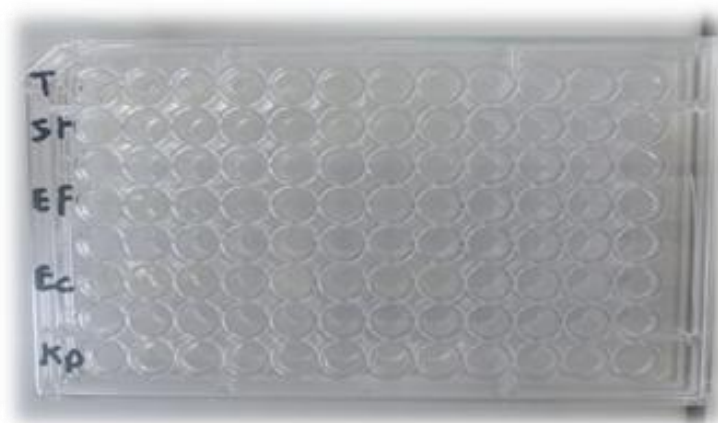


Figure 7 : Formation de biofilm sur microplaque de titration (TCP).

Après incubation, les puits sont vidés, rincés trois fois par l'eau distillée stérile, séchées en position retournée pendant 15 min et colorées avec 125 μ L de cristal violet à 0.5% pendant une durée de 15 min (**Cubero *et al.*, 2019**).

Le cristal violet est un colorant basique utilisé pour la quantification de biomasse totale, qui s'attache aux bactéries et aux exopolysaccharides présents dans la matrice du biofilm (**Peeters *et al.*, 2008 ; Kragh *et al.*, 2019**).

Après incubation, tout surplus de cristal violet est retiré grâce à trois rinçages avec l'eau distillée. Après séchage de la microplaque, le colorant fixé a été solubilisé par 125 μ L de l'éthanol 95%. L'incubation a eu lieu à température ambiante pendant 15 min (**Forbes *et al.*, 2019**).

La quantité de cristal violet solubilisé est mesurée par la lecture optique (DO) à 570 nm à l'aide d'un lecteur ELISA Auto Reader. L'interprétation des résultats a été réalisée sur la base de la DO du témoin. L'évaluation de la capacité des souches testées à générer un biofilm sur microplaque est effectuée en comparant la densité optique du témoin avec celle des différentes souches (**Hola et Ruzicka, 2011**). Les souches sont réparties dans les catégories ci-après (**Tableau 3**).

Matériel et méthodes

Tableau 3 : Classification de l'adhérence bactérienne par technique TCP. (Christensen *et al.*, 1985 ; Stepanović *et al.*, 2000)

Valeur DO	Adhérence	Formation de biofilm
< 0.120	Non adhérence	Non formatrice
0.120 - 0.240	Faiblement adhérence	Faiblement formatrice
>0.240	Fortement adhérence	Fortement formatrice

2.5.2. Étude de l'effet antibiofilm de l'huile essentielle (HE)

2.5.2.1. Préparation de la solution mère de l'HE

Il s'agit de préparer une solution mère, l'huile a été émulsionnée à l'aide du Tween 80 afin d'améliorer sa solubilisation dans le milieu aqueux. Le contenu est mélangé au vortex pour obtenir une solution bien homogénéisée (**Figure 8**). .

En mélangeant 10 μL de l'HE a 10 μL de Tween 80 (v/v) puis on complète par 180 μL de bouillon nutritif pour avoir un volume final de 200 μL .

Ensuite, une concentration de 10 % a été préparée à partir de cette solution mère (Sateriale *et al.*, 2023).



Figure 8 : Préparation de la solution mère de l'HE

2.5.2.2. Effet antibiofilm de l'HE

L'effet antibiofilm de l'HE du thym à une concentration 10 % sur différentes souches bactériennes a été étudié par la méthode de TCP.

Dans chaque puits d'une microplaque à 96 puits, 100 μL de l'HE est ajoutée à 100 μL de la suspension bactérienne pour chaque souche, la première ligne sert de témoin, contient

Matériel et méthodes

50% de BN et 50% de l'HE.

Après 24 heures d'incubation à 37°C (**Figure 9**), tout surplus de cristal violet est retiré grâce à trois rinçages avec l'eau distillée. Après séchage de la microplaque, le colorant fixé a été solubilisé par 125 µL de l'éthanol 95%. L'incubation a eu lieu à température ambiante pendant 15 min.

L'absorbance a été déterminée à 570 nm par un lecteur ELISA Auto Reader.



Figure 9 : Microplaque contenant la suspension bactérienne et l'HE.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

Cette partie présente les résultats expérimentaux obtenues lors de l'étude de l'effet antibiofilm d'huile essentielle du thym à 10 % sur quatre souches bactériennes. L'étude est organisée autour de la préparation des souches, de leur capacité intrinsèque à former un biofilm et de l'efficacité antibiofilm de cette huile.

1. Repiquage des souches bactériennes

Le repiquage des souches bactériennes utilisées : *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, a été effectué pour assurer la viabilité et la pureté des cultures avant la réalisation des tests.

Les souches ont étéensemencées sur un milieu gélose nutritive (GN) à partir d'une préculture dans du bouillon nutritif, puis incubées à une température de 37°C pendant 24h. Cette étape permet de placer les bactéries dans leur phase de croissance exponentielle indispensables à l'adhésion.

Après incubation, les colonies ont montré une croissance régulière et visible, indiquant une viabilité des souches employées.

2. Résultats de la Formation de Biofilm

La capacité des souches bactériennes à former le biofilm constitue un mécanisme crucial pour leur persistance et leur résistance aux conditions défavorables(**Tableau 4**).

L'évaluation de leur capacité à former le biofilm basé sur l'utilisation de la méthode de la plaque de culture de tissus TCP. La formation du biofilm a montré une variation de la densité optique (DO) entre les différentes quatre souches bactériennes étudiées, après coloration au cristal violet. Les résultats moyens pour les témoins sont résumés ci-dessous:

Tableau 4 : Résultats de l'évaluation de la formation de biofilm.

Bactéries	Valeurs de DO	Adhérence	Formation de biofilm
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,208	Faiblement adhérente	Faiblement formatrice
<i>Escherichia coli</i>	0,162	Faiblement adhérente	Faiblement formatrice
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,141	Faiblement adhérente	Faiblement formatrice
<i>Enterococcus faecalis</i>	0,132	Faiblement adhérente	Faiblement formatrice

Les résultats de la formation de biofilm pour les quatre souches (sans traitement) montrent des densités optiques (DO) moyennes variant entre 0,132 et 0,208, présentent une DO entre 0.120 - 0.240 ; les classant comme faiblement formatrice de biofilm.

Résultats et discussion

Nos résultats sont en désaccord avec l'étude de **Shrestha et al. (2018)**, qui ont démontré que les souches de références sont non formatrices de biofilm. *Staphylococcus aureus* présente la valeur de DO la plus élevée (0,208), ce qui indique une adhérence plus importante par rapport aux autres souches, suivie par *Escherichia coli* avec une DO de 0,162, puis *Klebsiella pneumoniae* avec une valeur de 0,141. La valeur la plus faible a été observée chez *Enterococcus faecalis* (0,132).

Cette faible capacité à former un biofilm est tout à fait normale et correspond aux résultats de d'autres recherches récentes. Pour *Staphylococcus aureus*, la valeur de 0,208 rejoint celle de **François et al. (2023)**, qui ont montré que sans stress ni stimulation, cette bactérie stagne à une DO entre 0,18 et 0,22 après 24 heures. De même, la faible DO chez *Escherichia coli* (0,162) et *Klebsiella pneumoniae* (0,141) s'explique par les travaux de **Di Domenico et al. (2022)** qui rappellent que dans un milieu de culture classique sans sucre ajouté, les bactéries ne reçoivent pas le signal pour fabriquer les composants nécessaires à leur fixation.

Enfin, le faible score d'*Enterococcus faecalis* (0,132) est proche des observations de **Yang et al. (2024)**, qui expliquent que cette espèce a souvent besoin de plus de 24 heures pour commencer à produire sa matrice protectrice si rien ne la stimule. En résumé, ces comparaisons confirment que les quatre souches se sont arrêtées à un stade de fixation très précoce (**Stepanović et al., 2007**).

Ces souches sont considérées comme faiblement productrices de biofilm mature dans les conditions de l'étude. Cela peut s'expliquer par un temps d'incubation insuffisant pour que ces souches spécifiques atteignent une phase de maturation complexe, puisque la cinétique de formation est fortement influencée par la souche utilisée et la disponibilité des nutriments (**Sateriale et al., 2023**). La faible DO observée ici pourrait s'expliquer par un biofilm jeune, une hypothèse également soulevée par **Diouchi et al. (2024)** qui ont prouvé que les résultats sur des biofilms de 48 h peuvent varier selon la maturité de la structure (**Figure 10**).

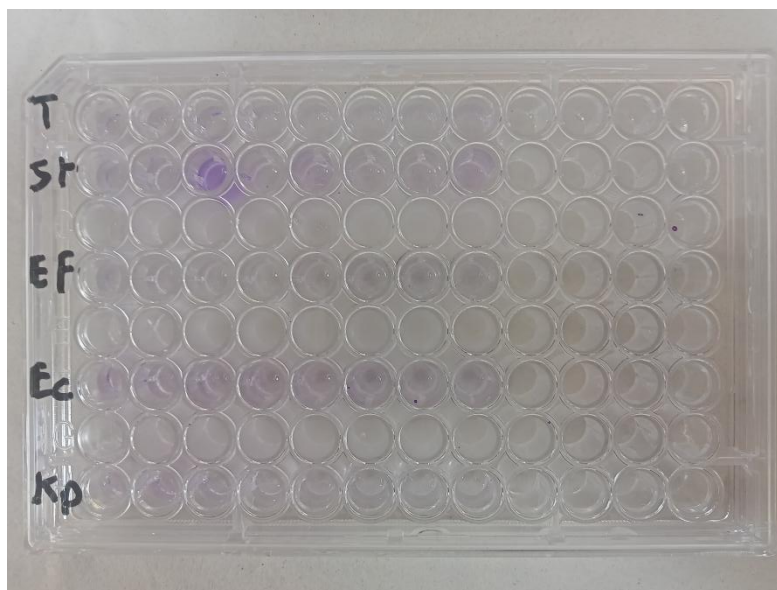


Figure 10 : La plaque après la coloration au cristal violet et solubilisation par l'éthanol.

3. Résultats de l'effet antibiofilm d'HE du thym sur les souches bactériennes

La méthode de TCP a été utilisée pour évaluer l'effet antibiofilm d'HE vis-à-vis des importante de la biomasse du biofilm pour toutes les souches, le tableau suivant indiquant les résultats de la formation de biofilm des souches bactériennes avant et après leur traitement par l'HE (**Tableau 5**).

Tableau 5 : Résultats de l'effet antibiofilm de l'HE du thym à 10% sur les souches bactériennes.

Souche	DO Moyenne avant le traitement	DO Moyenne après le traitement	Inhibition (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.208	0.092	55.61%
<i>Escherichia coli</i>	0.162	0.092	43.33%
<i>Enterococcus faecalis</i>	0.132	0.09	31.47%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.141	0.102	27.38%

En l'absence de l'HE du thym (sans traitement), les souches présentaient une faible capacité d'adhésion, la densité optique indiquant une adhérence importante entre 0,132 et 0,208. Cependant, l'ajout de l'HE (avec le traitement) a entraîné une diminution graduelle de l'adhésion bactérienne avec DO mesurées entre 0.09 et 0.102 inférieur à 0,120. Cela indique un manque d'adhérence et non-prolifération de biofilm (non formatrice).

Les résultats obtenus peut être confirment que l'efficacité de cette huile repose sur sa

Résultats et discussion

richesse en composés bioactifs principalement le thymol et carvacrol (**Sateriale et al., 2023**).

L'inhibition la plus marquée est observée chez *Staphylococcus aureus* (55.61%) suggérant une sensibilité particulière des bactéries à Gram positif à l'HE. Cette efficacité s'explique par la pénétration des composés phénoliques de l'huile à travers la paroi bactérienne. Ce fort potentiel antibiofilm de l'HE à faible concentration peut être expliqué par la présence de molécules actives capables d'inhiber spécifiquement les mécanismes de formation du biofilm.

En comparant nos résultats avec l'étude de **Sateriale et al. (2023)**, on note que l'huile de thym présente une bonne activité inhibitrice du biofilm. Dans la même étude, une réduction de 30 % de biofilm a été observée chez *Salmonella* à des doses modérées. Nos résultats pour *Enterococcus faecalis* (31,47 %), cette valeur est particulièrement intéressante et comparable à celle de **Diouchi et al. (2024)** qui insistent sur le fait que l'huile essentielle agit plus efficacement sur les phases précoces d'adhésion que sur les biofilms matures protégés par une matrice épaisse.

Les bactéries à Gram positif possèdent une couche épaisse de peptidoglycane mais sont dépourvues de membrane externe protectrice (**Nazzaro et al., 2013**). On souligne également que le thymol peut inhiber l'expression des gènes liés au Quorum Sensing, empêchant ainsi la communication bactérienne nécessaire à la formation du biofilm.

Les bactéries Gram négatif comme *Klebsiella pneumoniae* présente généralement une résistance plus importante en raison de leur membrane externe riche en lipopolysaccharides. La membrane externe des Gram négatif agit comme une barrière hydrophile sélective grâce aux lipopolysaccharides (LPS). Les agents antimicrobiens tels que le thymol et le carvacrol agissent en provoquant des dommages structuraux et fonctionnels à la membrane cytoplasmique, augmentant sa perméabilité et entraînant la fuite de constituants cellulaires essentiels (**Walsh et al., 2003**) ; cela peut expliquer la valeur la plus faible de la réduction chez cette souche qui était de 27,38%.

Le pourcentage d'inhibition le plus élevé est observé chez *Escherichia coli* (43.33%) indique que l'HE est capable de réduire significativement la formation du biofilm, sans toutefois provoquer une inhibition complète. Ce résultat demeure inférieur à celui rapporté par **Pabón et al. (2021)**, qui ont observé une inhibition supérieure à 70 % de la formation du biofilm en présence de l'HE. Cette activité peut être attribuée à la présence de composés phénoliques et pourrait également être liée à l'altération de la motilité, les études de **Kerekes**

Résultats et discussion

et al. (2013) rapportent aussi que les composants du thym altèrent la motilité; ce qui réduisant l'adhésion initiale à la surface.

Vázquez-Sánchez et al. (2018) démontrent que les huiles essentielles peuvent moduler l'expression des gènes régulant la production de la matrice extracellulaire (EPS). En réduisant la densité de cette matrice, l'huile du thym fragilise l'architecture du biofilm, facilitant ainsi sa désagrégation.

Nos résultats confirment que la concentration de l'HE est un agent préventif capable de réduire drastiquement l'installation des communautés bactériennes sur les surfaces inertes (Figure 11).

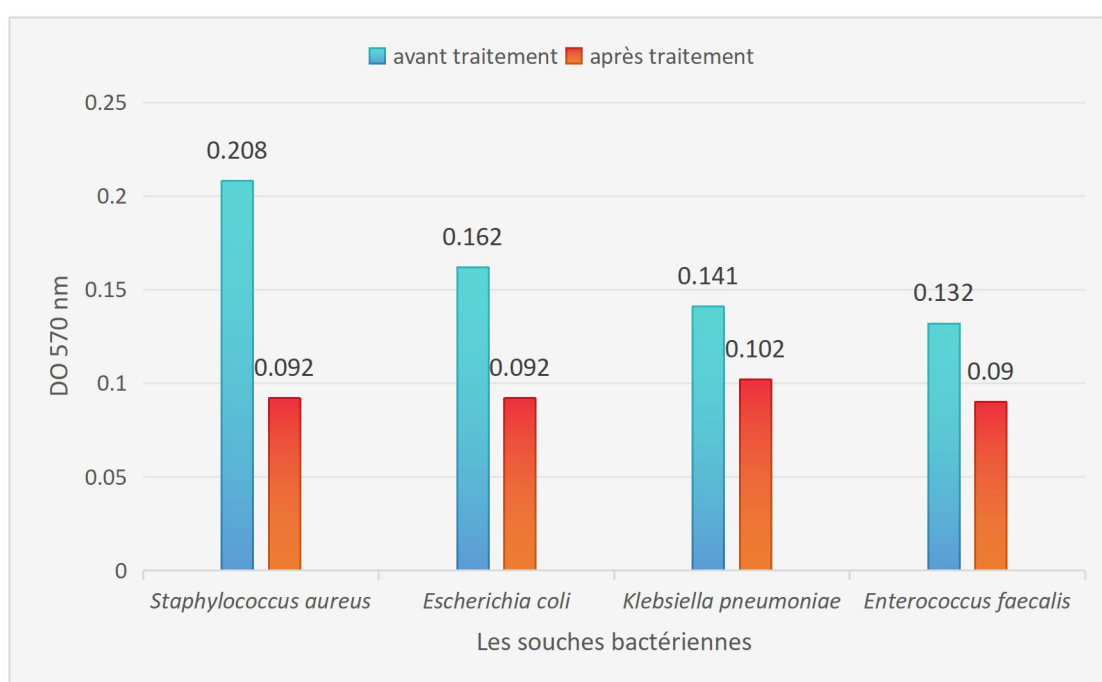


Figure 11 : Formation de biofilm avant et après le traitement.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les bactéries multi résistantes sont un problème croissant ces dernières années et posent de sérieuses difficultés thérapeutiques en raison de leur niveau de résistance plus élevé. Une alternative à ce problème sérieux consiste à utiliser des huiles essentielles de diverses plantes pour le contrôle bactérien. La plupart des études se sont concentrées sur les tests in vitro de la propriété antimicrobienne de ces huiles et ont même comparé l'utilisation de ces huiles à des antibiotiques commerciaux (Horváth *et al.*, 2016).

Ce travail de recherche avait pour objectif d'évaluer le potentiel antibiofilm de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur des souches bactériennes, face à l'impasse thérapeutique que représentent les infections bactériennes.

Les résultats obtenus au cours de notre étude montrent que l'huile du thym à 10 % à présenter une activité antibiofilm contre toutes les souches testées. *Staphylococcus aureus* à marqué le plus haut pourcentage d'inhibition qui était de 55.61 % . Ces données démontrent que notre concentration d'HE altère l'adhérence bactérienne et bloque la formation de la matrice protectrice, ces résultats mettent en évidence l'efficacité d'une approche anti-virulence ciblée pour fragiliser les défenses bactériennes sans induire de pression de sélection.

En conclusion, cette étude suggère le potentiel d'huile essentielle du thym comme alternative naturelle pour inhiber la formation de biofilm.

Pour consolider ses avancées et explorer leur application clinique, plusieurs perspectives de recherche se dessinent :

- Augmenter le nombre d'échantillons et diversifier la population étudiée.
- Suivre la cinétique de formation du biofilm sur une durée plus longue (48h et 72h) pour observer si ces souches finissent par atteindre un stade de maturation plus dense.
- Modifier les paramètres du milieu pour identifier les facteurs environnementaux.
- Évaluer l'effet antibiofilm de l'huile essentielle du thym à plusieurs concentrations afin de déterminer la dose efficace.

Annexes

Annexe 1 : Composition des milieux de culture

Composants	Bouillon Nutritif	Gélose Nutritive
Extrait de viande	1.5g	1.5g
Peptone	2.5g	2.5g
Agar-agar	---	7.5g
Eau distillée	500mL	500mL
Masse totale de poudre	4.0g	11.5g
pH final	6.8+/- 0.2	6.8+/- 0.2

Remarque : Autoclavage à 121 °C pendant 15 minutes.

Annexe 2 : La préparation de la solution mère de l'huile de thym

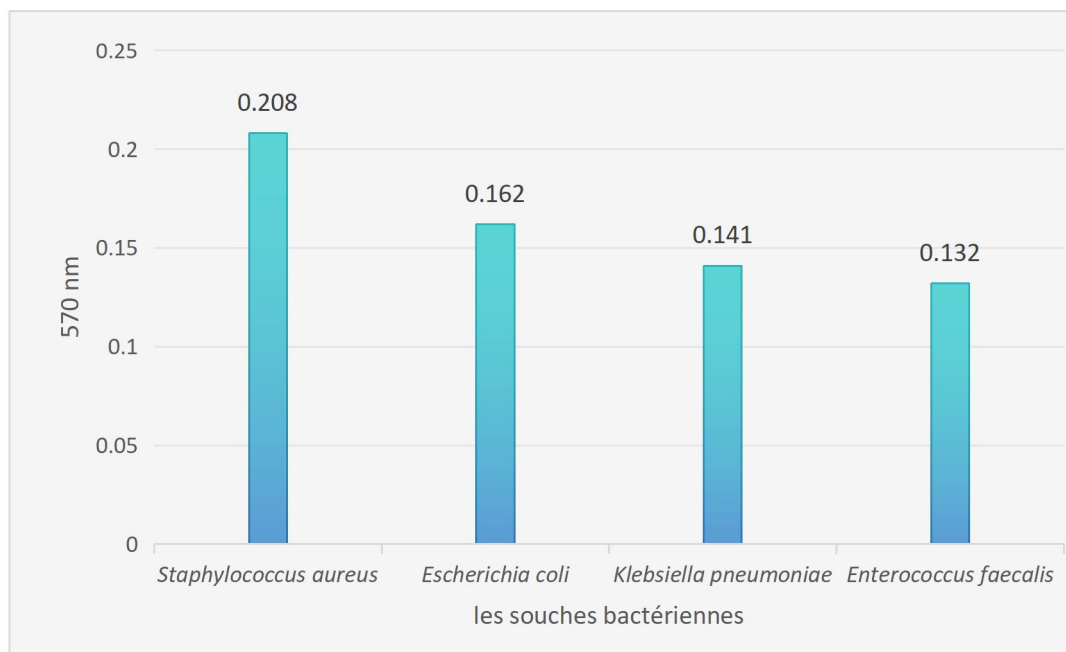
Composants	Pourcentage réel	Composants
Huile essentielle du Thym	10%	Huile essentielle du Thym
Tween 80	10%	Tween 80
Bouillon Nutritif	180%	Bouillon Nutritif

Annexe 3 : Préparation de la solution de cristal violet à 0,5 %

1. Peser **0,5 g** de cristal violet.
2. Dissoudre la poudre dans une petite quantité d'eau distillée
3. Compléter le volume à **100 mL** avec de l'eau distillée.
4. Homogénéiser jusqu'à dissolution complète.
5. Conserver la solution dans un flacon ambré à température ambiante.



Annexe 4 : Résultats de la formation de biofilm par la technique TCP



Références bibliographiques

- **Abdelli, W., Bahri, F., Romane, A., Höferl, M., Wanner, J., Schmidt, E., & Jirovetz, L.** (2017). Chemical composition and anti-inflammatory activity of Algerian *Thymus vulgaris* essential oil. *Natural Product Communications*, 12(4).
- **Abelan, U. S., Oliveira, A. C., Cacoci, É. S. P., Martins, T. E. A., Giacon, V. M., Velasco, M. V. R., & Lima, C. R. R. C.** (2022). Potential use of essential oils in cosmetic and dermatological hair products: A review. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 21(4), 1407–1418.
- **Ahmad, A., Viljoen, A. M., & Chenia, H. Y.** (2015). Essential oils as anti-virulence agents against bacterial pathogens. *Phytomedicine*, 22(12), 1111–1118.
- **Al-Asmari, A. K., Athar, M. T., Al-Faraidy, A. A., & Almuhaiza, M. S.** (2017). Chemical composition of essential oil of *Thymus vulgaris* collected from Saudi Arabian market. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(2), 147–150.
- **Al-Kafaween, M. A., Mohd Ali, R., Myint, M. H., & Al-Kafaween, A. A.** (2019). Evaluation of biofilm formation by different bacterial strains using tissue culture plate (TCP) method. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 13(4), 2133–2141.
- **Aneva, I., Marković, M., Husnjak Malovec, K., Naychov, Z., Mincheva, I., Stankov-Jovanović, V., & Kozuharova, E.** (2026). Traditional uses of *Thymus* species in the Balkans: Ethnopharmacology, food, and cultural heritage. *Life*, 16(3), 452.
- **Asha, D., & Mathew, L.** (2017). Chemical profiling of *Thymus vulgaris* L. using HPTLC. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(4), 1017–1023.
- **Aumeran, C., Haussy, S., Savy, C., Hennequin, C., Lesens, O., & Traoré, O.** (2020). Management of medical device-associated infections: A review of current clinical guidelines. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 50(4), 312–321.
- **Banerjee, P., Mukherjee, S., Bera, K., Ghosh, K., Ali, I., Khawas, S., & Ray, S.** (2019). Polysaccharides from *Thymus vulgaris* leaf: Structural features, antioxidant activity and interaction with bovine serum albumin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 125, 580–587.

Références bibliographiques

- **Bardeau, M.** (1973). *La médecine par les plantes*. Paris, France: Éditions Dangles.
- **Benazzeddine, N.** (2010). Étude morphologique et botanique de *Thymus vulgaris* L. Mémoire universitaire.
- **Binate, A., & Dikes, B.** (2018). Étude sur *Thymus vulgaris* et ses usages traditionnels. *Revue scientifique*, 12(3), 45–52.
- **Bjarnsholt, T., Alhede, M., Eickhardt-Sørensen, S. R., Moser, C., Kühl, M., Jensen, P. Ø., & Høiby, N.** (2013). The in vivo biofilm. *Trends in Microbiology*, 21(9), 466–474.
- **Boucher, H. W., Talbot, G. H., Bradley, J. S., Edwards, J. E., Gilbert, D., Rice, L. B., Scheld, M., Spellberg, B., & Bartlett, J.** (2009). Bad bugs, no drugs: No ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 48(1), 1–12.
- **Boulaghmen, F., Romane, A., Moumni, H., & El Madani, N.** (2018). Chemical composition and biological activities of *Thymus* species. *Journal of Medicinal Plants Research*, 12(5), 45–52.
- **Bridier, A., Briandet, R., Thomas, V., & Dubois-Brissonnet, F.** (2011). Resistance of bacterial biofilms to disinfectants: A review. *Biofouling*, 27(9), 1017–1032.
- **Bruneton, J.** (1987). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Paris, France: Technique et Documentation – Lavoisier.
- **Caro-Astorga, J., Pérez-García, A., de Vicente, A., & Romero, D.** (2021). A genomic region involved in the formation and dispersion of *Bacillus subtilis* biofilms. *Frontiers in Microbiology*, 12, 668913.
- **Chatterjee, P., Davis, E., & Yu, H. D.** (2023). Bacterial biofilms: Structure, function, and antimicrobial resistance. *Journal of Bacteriology*, 205(5), e00406-22.
- **Christensen, G. D., Simpson, W. A., Younger, J. J., Baddour, L. M., Barrett, F. F., Melton, D. M., & Beachey, E. H.** (1985). Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: A quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of Clinical Microbiology*, 22(6), 996–1006.

Références bibliographiques

- **Ciarolla, A. A., Lapin, N., Williams, D., Chopra, R., & Greenberg, D. E.** (2023). Physical Approaches to Prevent and Treat Bacterial Biofilm. *Antibiotics*, 12(1), 54
- **Cleveland, J., Montville, T. J., Nes, I. F., & Chikindas, M. L.** (2001). Bacteriocins: Safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 71(1), 1–20.
- **Coenye, T., Kjellerup, B., Stoodley, P., Bjarnsholt, T., & 2019 Biofilm Bash Participants.** (2020). The future of biofilm research – Report on the “2019 Biofilm Bash”. *Biofilm*, 2, 100012.
- **Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P.** (1999). Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318–1322.
- **Cubero, G., Rodríguez, S., & García, M.** (2019). Optimization of the crystal violet assay for biofilm quantification in microtiter plates. *Journal of Microbiological Methods*, 165, 105697.
- **Das, S., & Lalitha, K. V.** (2022). *Listeria monocytogenes* biofilms on glass surface: Survival and efficacy of two sanitizing agents for inactivation. *Fishery Technology*, 59(1), 51–57.
- **Dauqan, E. M., & Abdullah, A.** (2017). Medicinal and functional values of thyme (*Thymus vulgaris* L.) herb. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 5(2), 17–22.
- **Di Domenico, E. G., Oliva, A., & Guembe, M.** (2022). The current knowledge on the pathogenesis of tissue and medical device-related biofilm infections. *Microorganisms*, 10(7), 1259.
- **Ding, Y., Tian, Z., Zhao, T., Zhao, Y., Du, Y., Liu, F., & Cheng, Y.** (2025). Quorum sensing and biofilm formation in pathogenic bacteria: Mechanisms and therapeutic strategies. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1506604.
- **Diouchi, J., Marinković, J., Nemoda, M., El Rhaffari, L., Touré, B., & Ghoul, S.** (2024). In vitro methods for assessing the antibacterial and antibiofilm properties of essential oils as potential root canal irrigants—A simplified description of the technical steps. *Methods and Protocols*, 7(4), 50.

Références bibliographiques

- **Donlan, R. M.** (2002). Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 8(9), 881–890.
- **Eltaher, S. S., Khattab, Z., Walid, G., Loay, O., Emad, R., Hakim, C., & Elhadidy, M.** (2026). Hijacking the signal: A critical evaluation of quorum sensing inhibitors as a next-generation approach against *Staphylococcus aureus*. *Cell Communication and Signaling*, 24, 135.
- **Escobar, C. M., Sánchez, M., & Rojas, L.** (2020). Phenolic compounds and antioxidant capacity of *Thymus vulgaris* extracts. *Food Chemistry*, 312, 126043.
- **Farah, H., Kadhim-Abosaoda, M., Mohaisen-Mousa, H., Jyothi, S. R., Priyadarshini-Nayak, P., Janney, J. B., Singh, G., Singh-Chauhan, A., & Kumar-Mishra, M.** (2025). Nanomedicine strategies against biofilm-associated infections: Advances, challenges, and translational barriers. *MicrobiologyOpen*, 15(1), e70210.
- **Farhadi, K. F., Rajabi, E., Varpaei, H. A., Iranzadasl, M., Khodaparast, S., & Salehi, M.** (2024). Thymol and carvacrol against *Klebsiella*: Anti-bacterial, anti-biofilm, and synergistic activities—A systematic review. *Frontiers in Pharmacology*, 15.
- **Flemming, H.-C., & Wingender, J.** (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8(9), 623–633.
- **Flemming, H.-C., van Hullebusch, E. D., Little, B. J., Neu, T. R., Nielsen, P. H., Seviour, T., Stoodley, P., Wingender, J., & Wuertz, S.** (2025). Microbial extracellular polymeric substances in the environment, technology and medicine. *Nature Reviews Microbiology*,
- **Flemming, H.-C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., & Kjelleberg, S.** (2016). Biofilms: An emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 563–575.
- **Fong, D., & Barn, P.** (2012). Cleaning, disinfection, and sterilization at personal service establishments. National Collaborating Centre for Environmental Health.
- **Forbes, S., Latimer, J., Bazaid, A., & McBain, A. J.** (2019). Altered antibiotic susceptibility in established development of multi-species biofilms. *Frontiers in*

Références bibliographiques

- Microbiology, 10, 949.
- **François P, Schrenzel J, Götz F.** (2023). Biology and regulation of staphylococcal biofilm. *International Journal of Molecular Sciences*. 24(6):5218
 - **Galié, S., García-Gutiérrez, C., Miguélez, E. M., Villar, C. J., & Lombó, F.** (2018). Biofilms in the food industry: Health aspects and control methods. *Frontiers in Microbiology*, 9, 898.
 - **Galovičová, L., Borotová P, Valková V, Vukovic NL, Vukic M, Štefániková J, Ďúranová H, Kowalczewski PL, Čmíková N, Kačániová M.** (2021). Thymus vulgaris essential oil and its biological activity. *Plants*, 10(9), 1959.
 - **Ghelichnia, H.** (2016). Essential oil composition of three species of Thymus growing wild in Mazandaran, Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(4), 959–962..
 - **Goetz, P., & Ghédira, K.** (2012). Thymus vulgaris L. (Lamiaceae): Thym. In *Phytothérapie anti-infectieuse* (pp. 357–365). Paris, France: Springer.
 - **Gomes, L. C., Simões, M., & Simões, L. C.** (2024). Novel chemical-based approaches for biofilm cleaning and disinfection. *Current Opinion in Food Science*, 55, 101124.
 - **Guo, Z., Liu, M., & Zhang, D.** (2023). Potential of phage depolymerase for the treatment of bacterial biofilms. *Virulence*, 14(1).
 - **Guzzo, F., Scognamiglio, M., Fiorentino, A., & Buommino, E.** (2020). Plant-derived natural products against Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus: Antibiofilm activity and molecular mechanisms. *Molecules*, 25(21), 5024.
 - **Hammaz, F., & Nafa, A.** (2017). Étude des espèces du genre Thymus en Algérie et leur répartition géographique. *Mémoire universitaire, Algérie*.
 - **Henrici, A. T.** (1933). Studies of freshwater bacteria: I. A direct microscopic technique. *Journal of Bacteriology*, 25(3), 277–287.
 - **Holá, V., & Růžicka, F.** (2011). The formation of poly-microbial biofilms on urinary catheters. In P. Tenke (Ed.), *Urinary Tract Infections* (pp. 147–162).
 - **Islam, A. K. M. M., Suttiyut, T., Anwar, M. P., Juraimi, A. S., & Kato-Noguchi, H.**

Références bibliographiques

- (2022). Allelopathic properties of Lamiaceae species: Prospects and challenges to use in agriculture. *Plants*, 11(11), 1478.
- **Kabouche, A.** (2005). Étude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiacées (Thèse de doctorat d'État). Université Mentouri Constantine, Algérie.
 - **Kaplan, J. B.** (2010). Biofilm dispersal: Mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. *Journal of Dental Research*, 89(3), 205–218.
 - **Karpiński, T. M.** (2020). Essential oils of Lamiaceae family plants as antifungals. *Biomolecules*, 10(1), 103.
 - **Karygianni, L., Ren, Z., Koo, H., & Thurnheer, T.** (2020). Biofilm matrixome: Extracellular components in structured microbial communities. *Trends in Microbiology*, 28(8), 668–681.
 - **Kerekes, E. B., Deák, É., Takó, M., Tserennadmid, R., Petkovits, T., Vágvölgyi, C., & Krisch, J.** (2013). Anti-biofilm forming and anti-quorum sensing activity of selected essential oil components on food-borne pathogens. *Food Control*, 30(2), 582–588.
 - **Kerekes, E.-B., Deák, É., Takó, M., Tserennadmid, R., Petkovits, T., Vágvölgyi, C., & Krisch, J.** (2013). Anti-biofilm forming and anti-quorum sensing activity of selected essential oils and their main components on food-related micro-organisms. *Journal of Applied Microbiology*, 115(4), 933–942.
 - **Khan, M. S., Zahin, M., Hasan, S., Husain, F. M., & Ahmad, I.** (2021). A systematic review on ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacological aspects of *Thymus vulgaris* Linn. *Heliyon*, 7(5), e07054.
 - **Kowalczyk, A., Przychodna, M., Sopata, S., Bodalska, A., & Fecka, I.** (2020). Thymol and thyme essential oil—New insights into selected therapeutic applications. *Molecules*, 25(18), 4125.
 - **Kragh, K. N., Alhede, M., Jensen, P. Ø., & Bjarnsholt, T.** (2019). The crystal violet biofilm assay: An excellent screening tool with major limitations. *Biofilm*, 1, 100004.
 - **Kuete, V.** (2017). *Thymus vulgaris*. In V. Kuete (Ed.), *Medicinal Spices and Vegetables*

Références bibliographiques

from Africa (pp. 599–609). Cambridge, MA, USA: Academic Press.

- **Labiad, M. H., Harhar, H., Ghanimi, A., & Tabyaoui, M.** (2017). Phytochemical screening and antioxidant activity of Moroccan *Thymus satureioides* extracts. *Journal of Materials and Environmental Science*, 8(6), 2132–2139.
- **Latka, A., Drulis-Kawa, Z., Majkowska-Skrobek, G., Briers, Y., & Maciejewska, B.** (2017). Bacteriophage-encoded virion-associated enzymes to overcome carbohydrate barriers during the infection process. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101, 3103–3119.
- **Lavergne, R.** (2012). *Le thym : Culture, propriétés et usages médicinaux*. Paris, France: Éditions spécialisées en phytothérapie.
- **Li, L., Gao, X., Li, M., Liu, Y., Ma, J., Wang, X., Yu, Z., Cheng, W., Zhang, W., Sun, H., Song, X., & Wang, Z.** (2024). Relationship between biofilm formation and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* and updates on antibiofilm therapeutic strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1324895.
- **Liu, D., Huang, Q., Gu, W., & Zeng, X.-A.** (2022). A review of bacterial biofilm control by physical strategies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(13), 3453–3470.
- **Livingston, S.** (2025). Fresh Thyme Data.
- **Mack, D., Nedelmann, M., Krokotsch, A., Schwarzkopf, A., Heß, K. V., & Laufs, R.** (1999). Characterization of biofilm production of coagulase-negative staphylococci on plastic tissue culture plates and skin. *Journal of Medical Microbiology*, 48(12), 1077–1087.
- **Mah, T. F. C., & O'Toole, G. A.** (2001). Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends in Microbiology*, 9(1), 34–39.
- **Mahdavi, A., Moradi, P., & Mastinu, A.** (2020). Variation in terpene profiles of *Thymus vulgaris* under water stress conditions. *Molecules*, 25(5), 1091.
- **Maillard, J.-Y., & Centeleghe, I.** (2023). How biofilm changes our understanding of cleaning and disinfection. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 12, 95.

Références bibliographiques

- **McDougald, D., Rice, S. A., Barraud, N., Steinberg, P. D., & Kjelleberg, S.** (2012). Should we stay or should we go: Mechanisms and phenotypes of biofilm dispersal. *Nature Reviews Microbiology*, 10(1), 39–50.
- **Meneses, L., Brandão, A. C., Coenye, T., Braga, A. C., & Pires, D. P.** (2023). A systematic review of the use of bacteriophages for in vitro biofilm control. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 42, 919–928.
- **Morales, J.** (1997). Thymus L. In S. Castroviejo (Ed.), *Flora Iberica* (Vol. 12). Madrid, Spain: Real Jardín Botánico, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).
- **Muhammed, M. A., Shaker, K. H., & Al-Rubaye, A. T.** (2020). Initial bacterial adhesion and biofilm formation: Mechanisms and influential factors. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 14(3), 1675–1684.
- **Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V.** (2013). Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), 1451–1474.
- **Nieto, G., Ros, G., Castillo, J., & Sánchez, A.** (2021). The health-promoting effects of *Thymus vulgaris* L. and its applications in food systems. *Trends in Food Science & Technology*, 117, 218–227.
- **Pabón, L. C., Burbano-Rosero, E. M., Sierra, K., Stashenko, E., & Olivero-Verbel, J.** (2021). Effect of Essential Oils on Growth Inhibition, Biofilm Formation and Membrane Integrity of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics*, 10(12), 1474.
- **Paluch, E., Rewak-Soroczyńska, J., Jędrusik, I., Mazurkiewicz, E., & Jermakow, K.** (2020). Prevention of biofilm formation by quorum quenching. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104, 1871–1881.
- **Pariente, A.** (2001). *Le thym : histoire, usages et propriétés médicinales*. Paris, France: Éditions médicinales.
- **Patil, S. M., Ramu, R., Shirahatti, P. S., Shivamallu, C., & Amachawadi, R. G.** (2021). A systematic review on ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacological aspects of *Thymus vulgaris* Linn. *Heliyon*, 7(5), e07054.
- **Peeters, E., Nelis, H. J., & Coenye, T.** (2008). Comparison of multiple methods for

Références bibliographiques

- quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. *Journal of Microbiological Methods*, 72(2), 157–165.
- **Prasanth Reddy, V., Ravi Vital, K., Varsha, P., & Satyam, S.** (2014). Review on *Thymus vulgaris*. *Aromatic Plants*, 3(164), 2167–2412.
 - **Rasko, D. A., & Sperandio, V.** (2010). Anti-virulence strategies to combat bacteria-mediated disease. *Nature Reviews Drug Discovery*, 9(2), 117–128.
 - **Rumbaugh, K. P., & Sauer, K.** (2020). Biofilm dispersion. *Nature Reviews Microbiology*, 18(10), 571–586.
 - **Rutherford, S. T., & Bassler, B. L.** (2012). Bacterial quorum sensing: Its role in virulence and biofilm formation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(11), a012427.
 - **Saharan, B. S., Beniwal, N., & Duhan, J. S.** (2024). From formulation to function: A detailed review of microbial biofilms and their polymer-based extracellular substances.
 - **Sahoo, K., & Meshram, S.** (2024). Biofilm formation in chronic infections: A comprehensive review of pathogenesis, clinical implications, and novel therapeutic approaches. *Cureus*, 16(10), e70629.
 - **Salehi, B., Mishra, A. P., Shukla, I., Sharifi-Rad, M., Contreras, M. D. M., Segura-Carretero, A., & Sharifi-Rad, J.** (2019). *Thymus vulgaris* L. and thymol constituents: Phytochemistry and biological activities. *Phytotherapy Research*, 33(7), 1688–1706.
 - **Sateriale, D., Forgione, G., De Cristofaro, G. A., Pagliuca, C., Colicchio, R., Salvatore, P., Paolucci, M., & Pagliarulo, C.** (2023). Antibacterial and antibiofilm efficacy of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil against foodborne illness pathogens, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Bacillus cereus*. *Antibiotics*, 12(3), 485.
 - **Schmidt, R. H.** (2021). Sanitizers and disinfectants: The chemicals of prevention. *Food Safety Magazine*.
 - **Sharma, S., Mohler, J., Mahajan, S. D., Schwartz, S. A., Bruggemann, L., & Aalinkeel, R.** (2023). Microbial biofilm: A review on formation, infection, antibiotic resistance, control measures, and innovative treatment. *Microorganisms*, 11(6), 1614.

Références bibliographiques

- **Shrestha, L. B., Baral, R., Poudel, P., & Khanal, B.** (2018). *Catheter-Associated Urinary Tract Infection and Obstinate Biofilm Producers*. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology, 2018, 7624857.
- **Silva, A., Tewari, D., Sureda, A., Suntar, I., Belwal, T., Battino, M., Nabavi, S. M., & Nabavi, S. F.** (2021). The evidence of health benefits and food applications of *Thymus vulgaris* L. Trends in Food Science & Technology, 117, 218–227.
- **Stepanović S., Vuković D., Dakić I., Savić B., Švabić-Vlahović M.** (2000). A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. Journal of Microbiological Methods, 40(2), 175–179.
- **Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Di Bonaventura, G., Djukić, S., Ćirković, I., & Ruzicka, F.** (2007). Quantification of biofilm in microtiter plates: Overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. APMIS, 115(8), 891–899.
- **Tavassoli, S. M., Abedi-Firoozjah, R., Ahmadi, N., Ghaderi, S., & Alijan, S.** (2025). *Thymus vulgaris* L. In Phytoadaptogenic Properties of Medicinal Plants (Chapitre 16).
- **Thierry, A.** (2008). Étude de la formation de biofilms bactériens et de leur régulation par le quorum sensing en milieu industriel. Journal de Microbiologie Appliquée, 12(2), 45–54.
- **Topka-Bielecka, G., Dydecka, A., Necel, A., Bloch, S., Nejman-Faleńczyk, B., Węgrzyn, G., & Węgrzyn, A.** (2021). Bacteriophage-derived depolymerases against bacterial biofilm. Viruses, 13(2), 175.
- **Vassiliou, E., Awolaye, O., Davis, A., & Mishra, S.** (2023). Anti-inflammatory and antimicrobial properties of thyme oil and its main constituents. International Journal of Molecular Sciences, 24(8), 6936.
- **Vázquez-Sánchez, D., Galvão, J. A., Mazaheri Nezhad Fard, R., & de Martinis, E. C. P.** (2018). Essential oils as natural alternatives to control bacterial biofilms in the food industry. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 58(18), 3125–3142.
- **Walczak, M., Michalska-Sionkowska, M., Olkiewicz, D., Tarnawska, P., & Warzyńska, O.** (2021). Potential of carvacrol and thymol in reducing biofilm formation

Références bibliographiques

- on technical surfaces. *Molecules*, 26(9), 2723.
- **Walsh, S. E., Maillard, J. Y., Russell, A. D., Catrenich, C. E., Charbonneau, D. L., & Bartolo, R. G. (2003).** Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 94(2), 240–247.
 - **Wang, Y., Bian, Z., & Wang, Y. (2022).** Biofilm formation and inhibition mediated by bacterial quorum sensing. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106, 6365–6381.
 - **Wu, J., Zhang, M., & Chen, S. (2023).** Nisin: From a structural and meat preservation perspective. *Food Microbiology*, 109, 104207.
 - **Yang S, Meng X, Zhen Y, Baima Q, Wang Y, Jiang X, Xu Z. (2024).** Strategies and mechanisms targeting *Enterococcus faecalis* biofilms associated with endodontic infections: a comprehensive review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2024;14:1433313.
 - **Yang, Y., Mikš-Krajník, M., Zheng, Q., Dai, M., Chawla, S. P., & Yuk, H. G. (2016).** Biofilm formation of *Salmonella Enteritidis* and *Listeria monocytogenes* on food contact surfaces and their susceptibility to sanitizers. *Food Control*, 68, 274–282.
 - **Yu, W., Guo, J., Liu, Y., Xue, X., Wang, X., Wei, L., & Ma, J. (2023).** Potential impact of combined inhibition by bacteriocins and chemical substances of foodborne pathogenic and spoilage bacteria: A review. *Foods*, 12(16), 3128.
 - **ZoBell, C. E. (1943).** The effect of solid surfaces upon bacterial activity. *Journal of Bacteriology*, 46(1), 39–56

تقيم هذه الدراسة التأثير المضاد للأغشية الحيوية لزيت الزعتر العطري (*Thymus vulgaris*) على عدة أنواع من البكتيريا المكونة للأغشية الحيوية. وقد سُخدمت طريقة الألواح الدقيقة لقياس قدرة البكتيريا على تكوين غشاء حيوي قبل وبعد المعالجة بتركيز من الزيت العطري. تُظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن زيت الزعتر يتمتع بنشاط مضاد للأغشية الحيوية ملحوظ ضد العديد من السلالات المسببة للأمراض، ولا سيما المكورات العنقودية الذهبية، والإشريكية القولونية، والزائفة الزنجارية، والكلبيلا الرئوية. مع انخفاض كبير في الكثافة البصرية بعد المعالجة. تسلط هذه النتائج الضوء على إمكانات زيت الزعتر العطري كعامل طبيعي مضاد للبيوفيلم، مما يفتح آفاقاً مثيرة للاهتمام لتطوير استراتيجيات جديدة لمكافحة العدوى البكتيرية المرتبطة بالغشاء الحيوي.

الكلمات المفتاحية: زيت الزعتر العطري، الأغشية الحيوية، مضاد الأغشية الحيوية، بكتيريا، الصفيحة الدقيقة
Thymus vulgaris.

Abstract

This study evaluates the antibiofilm effect of thyme essential oil « *Thymus vulgaris* » on several biofilm-forming bacteria. The microplate assay was used to measure the bacteria's ability to form a biofilm before and after treatment of the essential oil. The results show that thyme oil exhibits significant antibiofilm activity against several pathogenic strains, including *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Klebsiella pneumoniae*, with a significant reduction in optical density following treatment. These results highlight the potential of thyme essential oil as a natural antibiofilm agent, thus opening up interesting prospects for the development of new strategies to combat bacterial infections associated with biofilms.

Keywords: Thyme essential oil, *Thymus vulgaris*, biofilm, antibiofilm, bacteria, microplate.

Résumé

Cette étude évalue l'effet antibiofilm de l'huile essentielle du thym « *Thymus vulgaris* » sur plusieurs bactéries formatrices de biofilm. La méthode de microplaque a été utilisée afin de mesurer la capacité des bactéries à produire un biofilm avant et après traitement par l'huile essentielle du thym. Les résultats obtenus montrent que l'huile du thym possède une activité antibiofilm significative contre plusieurs souches bactériennes, notamment *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*, avec une réduction importante de la densité optique après traitement. Ces résultats mettent en évidence le potentiel de l'huile essentielle du thym comme agent naturel antibiofilm, ouvrant ainsi des perspectives intéressantes pour le développement de nouvelles stratégies de lutte contre les infections bactériennes associées aux biofilms.

Mots-clés : Huile essentielle du thym, *Thymus vulgaris*, biofilm, antibiofilm, bactéries, microplaque.